

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1896

N°

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 30 janvier 1896, à 1 heure

PAR

MAURICE ARTHUS

né à Angers, le 9 janvier 1862

NATURE DES ENZYMES

Président : M. JOFFROY, professeur.

*Juges : MM. LABOULBÈNE, professeur.
HUTINEL, ROGER, agrégés.*

*Le Candidat répondra, en outre, aux questions qui lui seront faites
sur les diverses parties de l'enseignement médical.*

PARIS

HENRI JOUVE

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, Rue Racine, 15

1896

136

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MEDECINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553824_0037

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1896

— THÈSE —

N° —

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 30 janvier 1896, à 1 heure

PAR

MAURICE ARTHUS

né à Angers, le 9 janvier 1862

NATURE
DES ENZYMES

Président : M. JOFFROY, professeur.

*Juges : MM. { LABOULBÈNE, professeur.
 { HUTINEL, ROGER, agrégés.*

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS

HENRI JOUVE

IMPRIMEUR DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

15, rue Racine, 15

—
1896

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen.	M. BROUARDEL
Professeurs	MM.
Anatomie	FARABEUF.
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale.	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale.	N.
Pathologie et thérapeutique générales.	BOUCHARD.
Pathologie médicale.	DIEULAFOY.
Pathologie chirurgicale.	DEBOVE.
Anatomie pathologique	LANNELONGUE.
Histologie.	CORNIL.
Opérations et appareils.	MATHIAS DUVAL.
Pharmacologie.	TERRIER.
Thérapeutique et matière médicale.	POUCHET.
Hygiène.	LANDOUZY
Médecine légale.	PROUST.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	BROUARDEL.
Pathologie comparée et expérimentale.	LABOULEBENE
	STRAUS.
	G. SEE.
Clinique médicale.	POTAIN.
	JACCOUD.
	HAYEM.
Maladie des enfants.	GRANCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	FOURNIER.
Clinique des maladies du système nerveux.	RAYMOND.
	TILLAUX.
Clinique chirurgicale.	BERGER.
	DUPLAY.
	LE DENTU.
Clinique des maladies des voies urinaires.	GUYON.
Clinique ophthalmologique.	PANAS.
Clinique d'accouchements.	TARNIER.
	PINARD.

Professeurs honoraires.

MM. SAPPEY, PAJOT.

Agrégés en exercice.

MM.			
ACHARD	GAUCHER	MARIE	SEBILLEAU
ALBARRAN	GILBERT	MÈNEPIER	THIERRY
ANDRE	GILLES DE LA	NELATON	THOINOT
BAR	TOURETTE	NETTER.	TUFFIER
BONNAIRE	GLEY	POIRIER, chef des	VARNIER
BROCA	HARTMANN	travaux anatomi-	WAETHER
CHANTEMESSE	HEIM	ques.	WEISS
CHARRIN	LEJARS	RETTERRER	WIDAL
CHASSEVANT	LETULLE	RICARD	WURTZ
DELBET	MARFAN	ROGER	

Secrétaire de la Faculté: M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MON MAÎTRE EN PHYSIOLOGIE

M. A. DASTRE

Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

A MON MAÎTRE EN NEUROPATHOLOGIE, PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE DOCTEUR JOFFROY

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

A MON MAÎTRE EN CHIRURGIE

M. LE DOCTEUR P. BERGER

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

NATURE DES ENZYMES

I

QUELQUES DÉFINITIONS SUR LES ENZYMES.

Certains liquides organiques, notamment les sucs digestifs, salive, suc gastrique, suc pancréatique, possèdent la propriété de produire certaines transformations chimiques : la salive transforme l'amidon cuit en dextrines et maltose ; le suc gastrique transforme les substances albuminoïdes en protéoses ; le suc pancréatique transforme les hydrates de carbone en dextrines et maltose et les substances albuminoïdes en protéoses.

Ces transformations chimiques présentent quelques particularités remarquables : les sucs digestifs n'exercent qu'une action faible à basse température, voisine de

0°; leur activité augmente avec la température pour devenir maxima à une température voisine de 40°; enfin, leur activité est supprimée et définitivement détruite par une température plus élevée, toujours inférieure à la température d'ébullition de l'eau.

Les sucs digestifs, a-t-on dit, doivent ces propriétés chimiques à une substance spécifique qui est détruite par une température élevée : on a appelé cette substance, un *ferment*. Les sucs digestifs ne sont pas les seules substances capables de produire des transformations par ferment ; la plupart des tissus organiques, les sucs végétaux, possèdent également des propriétés de même nature.

Le mot *ferment* sert aussi à désigner certains êtres infiniment petits, levures, bactéries, bacilles, capables de produire dans certains milieux des transformations chimiques, capables de transformer le glucose en alcool et acide carbonique, de transformer le lactose en acide lactique, de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque. Mais ces transformations sont des manifestations immédiates de l'activité vitale : elles sont intimement liées à la vie des microorganismes capables de les accomplir : qu'une cause quelconque vienne à tuer les organismes et la transformation chimique s'arrête instantanément. Il n'en est pas de même des sucs digestifs ; leur activité n'est en aucune façon liée à la présence d'éléments vivants flottant dans ces sucs ; elle ne cesse pas par l'action de certains agents capables de tuer les êtres vivants, au moins par l'action de tous les agents antiseptiques.

C'est ainsi que si l'on ajoute à une urine en pleine transformation ammoniacale quelqu'un de ces agents an-

tiseptiques tel que le thymol, le phénol, le chloroforme, le fluorure de sodium, etc., la transformation ammoniacale de l'urée est arrêtée aussitôt. Si l'on ajoute à une digestion albuminoïde par le suc gastrique l'un de ces agents, la peptonisation continue. Il y a lieu par conséquent de distinguer deux sortes de ferments et deux sortes de fermentations : les ferments vivants, ou, comme on dit le plus souvent, les *ferments figurés*, dont l'activité est diminuée et détruite par les agents antiseptiques, et les ferments chimiques, ou, comme on dit généralement, les *ferments solubles*, qui résistent à l'action de nombreux antiseptiques sinon de tous les antiseptiques. Il y a lieu de distinguer les fermentations vitales produites par les ferments figurés, et les fermentations chimiques produites par les ferments solubles.

Pour éviter plus encore toute confusion entre ces deux ordres d'agents et ces deux ordres de phénomènes, on désigne souvent les ferments solubles par d'autres noms que le nom de ferment : on les appelle *diastases*, *zymases*, *enzymes* ; et l'on désigne les fermentations par ferments solubles sous le nom de *fermentations diastasiques*, *transformations diastasiques*, etc.

Les agents actifs des sucs digestifs, les diastases ou enzymes, sont fort mal connues : on admet en général que ce sont des substances chimiquement définissables par leur composition chimique et par leurs propriétés. Je me borne actuellement à rappeler les faits suivants.

Lorsqu'on met à macérer, dans l'eau ou dans la glycérine, un pancréas haché, on obtient une liqueur possédant les propriétés diastasiques du suc pancréatique ou

du tissu pancréatique ; on dit que l'enzyme ou les enzymes pancréatiques sont solubles dans l'eau et dans la glycérine. D'une façon générale, toutes *les enzymes sont solubles dans l'eau et dans la glycérine* : cela veut dire que si l'on met à macérer un tissu ou une substance doués d'un pouvoir diastasique, dans l'eau ou la glycérine, ce tissu ou cette substance communiquent à l'eau ou à la glycérine leur propriété diastasique ; cela ne veut pas dire plus : les faits observés ne le permettraient pas.

Lorsqu'on traite par l'alcool fort un liquide doué de propriétés diastasiques, que ce liquide soit une liqueur naturelle comme la salive, ou une liqueur artificielle comme une macération de glandes salivaires, on détermine la formation d'un précipité. Si l'on sépare ce précipité par filtration, si on le lave à l'alcool fort et à l'éther, si on le dessèche dans le vide au-dessus de l'acide sulfurique, à température peu élevée, 15° par exemple, et si on vient à broyer ce résidu sec dans de l'eau, on communique à cette eau les propriétés diastasiques que possédaient la liqueur ou la macération d'origine. On dit que *les enzymes sont précipitées par l'alcool*, insolubles dans l'alcool ou plus exactement peu solubles dans l'alcool, et solubles dans l'eau après traitement par l'alcool. Cela veut dire simplement que les précipités produits par l'alcool dans les liqueurs diastasiques possèdent la propriété, après avoir subi les traitements que j'ai indiqués, de communiquer à l'eau, avec laquelle ils sont mis en contact, des propriétés diastasiques.

Si dans une liqueur douée de propriétés diastasiques,

on détermine la production de certains précipités, surtout la production de précipités gélatineux ou floconneux, tels que les précipités de savons de chaux, de phosphates de chaux, etc.; et si on redissout ces précipités par un agent convenablement choisi, par l'eau légèrement acidulée par exemple, dans le cas d'un phosphate de chaux, on communique à cette eau la propriété diastasique. On dit que *les enzymes sont mécaniquement entraînées et fixées par les précipités floconneux*, notamment par le phosphate de chaux. Cela veut dire simplement que le précipité de phosphate de chaux produit dans une liqueur diastasique et débarrassé par lavage de la liqueur qui le souille, communique aux liqueurs, dans lesquelles on le dissout la propriété diastasique ; cela ne veut rien dire de plus.

Les enzymes, dit-on, sont indialysables : cela veut dire et veut dire uniquement que si l'on met dans un dialyseur une liqueur douée de propriétés diastasiques, le liquide extérieur n'acquiert pas de propriétés diastasiques.

Les enzymes sont fixées par la fibrine fraîche; cela veut dire uniquement que si dans une liqueur douée de propriétés diastasiques on plonge des flocons de fibrine, on constate que la puissance diastasique de la liqueur diminue, et que, si, après avoir débarrassé cette fibrine, par des lavages, du liquide dans lequel elle a été plongée, on l'introduit dans une autre liqueur convenablement choisie, elle peut communiquer à cette autre liqueur la propriété diastasique de la liqueur primitive.

J'ai cru devoir entrer dans ces détails pour bien établir que les expressions appliquées aux propriétés des enzy-

mes ne doivent pas être comprises dans leur sens absolument rigoureux. Rien ne permet, en effet, d'affirmer que les liqueurs douées de propriétés diastasiques contiennent une substance chimiquement définie qui serait soluble dans l'eau et dans la glycérine, insoluble dans l'alcool, non coagulée par l'alcool, entraînée mécaniquement par certains précipités, fixée par la fibrine, non dialysable, décomposée par la chaleur, etc.

Certains tissus et certains liquides organiques, qui ne sont doués d'aucune propriété diastatique, possèdent la propriété d'acquérir, lorsqu'ils sont soumis à l'action d'un agent convenablement choisi, des pouvoirs diastatiques. On dit alors que ces tissus et liquides contiennent des *proferments*, des *proenzymes*, des *substances zymogènes* ou *enzymogènes*. Cela ne veut pas dire que ces tissus et liquides renferment des substances chimiquement définissables qui, traitées par des réactifs convenables, se transforment en d'autres substances également définies, les ferments. Cela veut dire uniquement que ces tissus et liquides possèdent la propriété de devenir diastatiques.

Exemple. — Lorsqu'on fait macérer une muqueuse gastrique d'un mammifère adulte dans l'eau distillée, on obtient une liqueur qui ne possède pas la propriété de caséifier le lait; mais si l'on additionne cette liqueur de 1 pour 1000 d'acide chlorhydrique, et si on neutralise cet acide par la soude ou le carbonate de soude quelque temps plus tard, on obtient une liqueur capable de caséifier le lait. On a engendré un pouvoir diastatique, on a engendré une enzyme. Mais on ne peut pas engendrer

une enzyme en faisant agir l'acide chlorhydrique sur une liqueur quelconque : une macération aqueuse de muscle, de cerveau, de rein, etc., traitée par l'acide chlorhydrique n'acquiert pas la propriété, après neutralisation, de castrifier le lait. La macération aqueuse de muqueuse gastrique a une propriété spécifique remarquable, celle de pouvoir acquérir une propriété diastatique spéciale par l'action de l'acide chlorhydrique. On traduit ce fait en disant que la macération aqueuse de muqueuse gastrique contient un proferment, une substance zymogène transformable en ferment par l'acide chlorhydrique. Je le répète, cela n'implique pas nécessairement l'existence d'une substance matérielle, mais simplement l'existence de propriétés spéciales.

A ces transformations de proferments en ferments, il faut donner un nom, car tout phénomène net et défini doit avoir son étiquette permettant de le désigner et de le classer. Je propose d'appeler cette transformation *zymogénèse*. Les agents capables de transformer les substances zymogènes en enzymes seront des *agents zymogéniques*.

Dans l'exemple précédent on dira que l'acide chlorhydrique est un agent zymogénique et qu'il produit dans les macérations aqueuses de muqueuses gastriques de mammifères adultes un phénomène de zymogénèse.

On peut d'ailleurs remplacer ces termes généraux par des termes spéciaux à chaque propriété diastatique. En conservant le même exemple, on dira que les macérations aqueuses de muqueuses gastriques de mammifères adultes contiennent une *substance labogène* ; que l'acide chlorhy-

drique, *agent labogénique*, transforme cette substance labogène en lab.

A côté de ces phénomènes de zymogénèse, je placerai les phénomènes inverses, les phénomènes de destruction des diastases, les phénomènes que je propose d'appeler phénomènes de *zymolyse*. De même qu'il existe des agents zymogéniques, il y a des *agents zymolytiques*.

Exemple. — Lorsqu'on alcalinise par un alcali caustique à 10/0, par exemple, une liqueur douée de la propriété de caséifier le lait, une liqueur contenant du lab-ferment, on constate que cette liqueur ne tarde pas à ne plus pouvoir, après neutralisation, caséifier le lait. Lorsqu'on acidule par un acide minéral à 10/0, par exemple, une liqueur douée du pouvoir de peptoniser les substances albuminoïdes en milieu neutre, une liqueur contenant par conséquent, de la pepsine, on constate que cette liqueur ne tarde pas à ne plus pouvoir, après neutralisation, peptoniser ces substances. Dans l'un et l'autre cas, il y a eu zymolyse : *labolyse* dans le premier cas, *trypsinolyse* dans le second.

La chaleur est un agent zymolytique ; lorsqu'on porte à l'ébullition une liqueur douée de pouvoir diastasique, elle perd cette propriété : le ferment est détruit ; il y a zymolyse, ou si l'on veut préciser plus encore, il y a *thermozymolyse* ; on pourra dire suivant la nature de la propriété diastique de la liqueur en expérience *thermolabolyse*, *thermotrypsinolyse*, *thermopepsinolyse*, etc.

Les liqueurs douées de propriétés diastases sont plus ou moins actives ; on peut à volonté augmenter,

diminuer, ou supprimer temporairement leur propriété diastasique par addition de substances convenablement choisies. Il existe des substances ou agents qui retardent ou diminuent, des substances ou agents qui suppriment l'action des enzymes.

Il existe des substances ou agents qui favorisent l'action des enzymes, les exemples abondent ; l'addition au lait de vache d'une proportion convenable des sels alcalino-terreux, ou de gaz carbonique, favorise l'action du labferment, la caséification est plus rapide, toutes autres choses égales d'ailleurs ; l'addition au suc pancréatique d'un carbonate alcalin à la dose de 0,5 à 1 0/0 rend plus actif ce suc peptonisant : les substances albuminoïdes sont plus rapidement transformées, toutes autres choses égales d'ailleurs.

On peut dire dans l'un ou l'autre cas qu'il y a eu *zymodynamogénie*, *labodynamogénie* dans le premier cas, *trypsinodynamogénie*, dans le second. Les agents qui favorisent l'action des enzymes sont des *agents zymodynamogéniques*, les sels calciques et le gaz carbonique sont des *agents labodynamogéniques*, les carbonates alcalins sont des *agents trypsinodynamogéniques*.

La chaleur peut être un agent zymodynamogénique : une température voisine de 40° favorise l'action des enzymes : il y a alors *thermozymodynamogénie*.

Il ne faut pas confondre les agents zymogéniques avec les agents zymodynamogéniques : étant donnée une liqueur telle que la macération aqueuse de muqueuse gastrique de mammifère adulte, incapable de caséifier le lait, un acide joue le rôle de substance labogénique : le lab en-

gendré persiste alors même que l'acide a été neutralisé ; d'autre part, étant donnée une liqueur douée du pouvoir caséifiant, un sel de calcium dissous joue le rôle de substance labodynamogénique, car, une fois le sel de calcium enlevé par un procédé quelconque, la liqueur recouvre son pouvoir caséifiant primitif.

Il existe des substances ou des agents qui retardent l'action des enzymes : si l'on ajoute 1/2 pour 1000 d'acide chlorhydrique à une liqueur trypsique, le pouvoir peptonisant de cette liqueur est considérablement diminué : il y a *zymofrévation* : les acides à petite dose sont pour la trypsine des *agents zymofrévateurs*, ou pour préciser les acides à petite dose sont des agents *trypsinofrévateurs*.

Souvent les agents zymofrévateurs sont en même temps des agents zymolytiques : la destruction lente de l'enzyme se traduit par une diminution de son activité. Mais il n'en est pas toujours ainsi : lorsqu'on refroidit une solution diastasique, on retarde l'action de l'enzyme ; mais si l'on ramène la liqueur à la température primitive, on constate que le pouvoir diastasique de cette liqueur n'est pas modifié : le froid est ainsi un agent zymofrévateur sans être un agent zymolytique.

Il existe des substances ou des agents qui suspendent totalement l'activité des enzymes sans détruire ces enzymes : ce sont les *agents zyminhibiteurs*. C'est ainsi qu'une température suffisamment basse empêche la coagulation du sang, la caséification du lait, etc. ; le froid produit une *zyminhibition*.

Enfin, il existe des substances qui sont nécessaires à

l'action de certaines enzymes. C'est ainsi que le fibrin-ferment ne transforme le fibrinogène qu'en présence de sels de calcium ou de strontium ; c'est ainsi que la pepsine ne peptonise les substances albuminoïdes qu'en milieu acide. Toutefois, je ne crois pas devoir désigner ces substances sous un titre particulier. Si, en effet, les sels de calcium ou de strontium sont nécessaires à l'action du fibrin-ferment, c'est que ces corps entrent dans la constitution moléculaire de l'un des produits de transformation du fibrinogène par le fibrin-ferment. Si l'acide est nécessaire à l'action de la pepsine, c'est vraisemblablement parce qu'il forme avec les substances albuminoïdes ou leurs produits de transformation des combinaisons : on ne les connaît pas toutes, mais on en connaît au moins une, la syntonine ou acidalbuminoïde ; on sait, en outre, que les protéoses, produits de transformation peptique des substances albuminoïdes, peuvent se combiner avec les acides dont elles masquent, comme on dit souvent, les réactions. .

TRAVAUX SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE DES ENZYMES.

De nombreuses recherches ont été faites pour établir les affinités chimiques des enzymes. Je citerai les principales parmi ces recherches.

Cohnheim considère les enzymes comme n'étant pas des substances albuminoïdes, notamment la diastase du malt. Si, en effet, on prépare l'enzyme par précipitation au moyen du phosphate de chaux, on obtient une substance dont les solutions ne précipitent ni par l'ébullition, ni par l'acide nitrique, ni par le tannin, le sublimé, le ferrocyanure de potassium acétique. D'où cette conclusion : les ferments d'origine animale ou végétale, capables de saccharifier l'amidon, ne doivent en aucune façon, être rapprochés du groupe des substances albuminoïdes.

Hüfner prépare les ferments du pancréas d'après la méthode de von Wittich. Le pancréas de bœuf est débarrassé de sang par lavages, haché, mis en contact pendant longtemps avec de l'alcool absolu, séparé de l'alcool et

plongé dans la glycérine. Après quelques jours, la glycérine est séparée, par filtration, du tissu pancréatique, et additionnée d'un excès d'alcool absolu. Un précipité blanc pulvérulent se forme : c'est le ferment brut. Ce précipité est une substance azotée et sulfurée, riche en matières minérales, se dissolvant dans l'eau à laquelle elle communique le pouvoir amylolytique, peptonisant et saponifiant du suc et du tissu pancréatiques. L'analyse élémentaire de ce précipité a donné les résultats suivants :

	I		II	III	IV
C.	40,42	40,64	40,27	41,53	40,90
H.	6,49	6,95	6,45	6,92	6,85
Az	—	13,32	—	—	13,64
Cendres . . .	—	—	—	—	8,22

Ce ferment brut est mis à macérer dans la glycérine ; il s'y dissout lentement, et cette seconde solution glycé-
rinée est versée goutte à goutte dans une haute éprou-
vette contenant de l'alcool absolu : il se produit un pré-
cipité floconneux qui, après un contact de un à deux
jours avec un mélange d'alcool et d'éther, est séparé par
filtration, desséché et analysé. Ce nouveau précipité a
donné à l'analyse élémentaire les résultats suivants :

C.	43,25	43,09	43,50
H.	6,80	6,50	6,73
Az	—	13,80	14,00
S.	—	—	0,88
Cendres . . .	—	—	7,04

Cette substance se dissout lentement dans l'eau, et la liqueur aqueuse présente les réactions des substances albuminoïdes; elle donne un coagulum à l'ébullition, un volumineux précipité blanc par l'acétate de plomb, par l'azotate de mercure, le sublimé, l'azotate d'argent. Le ferrocyanure acétique et la liqueur de Brücke chlorhydrique troublent puis précipitent la liqueur. Le tannin précipite, l'acide nitrique donne la réaction xanthoprotéique. Enfin la liqueur fournit la réaction du biuret et la réaction de Millon.

Bien que présentant les réactions albuminoïdes, le ferment préparé par Hüfner ne présente pas la constitution centésimale de ces substances : toutes les préparations, abstraction faite des cendres, diffèrent notablement par leur teneur en carbone et azote des substances albuminoïdes; les enzymes sont toujours plus oxygénées que les substances albuminoïdes.

Je rappelle pour mémoire la composition centésimale des substances albuminoïdes.

C.	de 50 à 55 pour 100
H.	de 6,5 à 7,3
Az.	de 15 à 18
O.	de 20 à 23,5
S.	de 0,3 à 2,2

Donath prépare l'invertine de levure de bière par le procédé de Zulkowsky et König. La levure est épuisée par l'alcool absolu, pressée, desséchée à douce température, broyée et lessivée à l'eau. La liqueur filtrée, opa-

lescente, ainsi obtenue, est agitée avec de l'éther : une masse muqueuse se dépose dans les couches profondes de l'éther. Cette masse muqueuse est agitée à plusieurs reprises avec de l'eau, et cette eau filtrée est versée goutte à goutte dans l'alcool : un précipité floconneux blanc se forme : après avoir été lavé à l'alcool, ce précipité est desséché dans le vide.

La substance ainsi obtenue, dissoute dans l'eau, donne la réaction albuminoïde de Millon, mais ne donne pas la réaction d'Adamkiewicz. L'analyse élémentaire fournit les résultats suivants :

C	40,48	40,53
H	6,88	6,38
Az.	9,47	9,36

Barth recherche quelle est la composition de l'invertine. De la levure fraîche est séchée à une température qui ne dépasse pas 40°, puis finement pulvérisée. La poussière sèche est maintenue 6 heures à l'étuve à 100-105°. Après refroidissement, elle est additionnée d'un peu d'eau, et la bouillie ainsi préparée est abandonnée 12 heures à 40°. Le tout est jeté sur un filtre, et la liqueur brunâtre filtrée est versée dans cinq à six fois son volume d'alcool à 95 pour 100. Il se produit un précipité abondant qu'on lave à l'alcool et qu'on recueille sur un filtre. Ce précipité est riche en substances albuminoïdes. Pour les séparer de la substance diastasique, on dissout le précipité dans l'eau; on précipite la solution aqueuse par l'alcool fort, ajouté en excès, et on répète cette ma-

nœuvre plusieurs fois. Finalement on lave le dernier précipité obtenu à dix reprises par l'alcool absolu pour le bien deshydrater. On obtient ainsi une masse cornée facile à pulvériser. Cette poudre se dissout dans l'eau donnant une solution claire légèrement jaunâtre, fortement mousseuse, à réaction neutre, ne troublant pas à l'ébullition, même après addition de chlorure de sodium et d'acide acétique : elle ne donne pas la réaction du biuret; l'acétate de plomb y détermine la formation d'un précipité blanc insoluble dans l'acide acétique, mais soluble dans l'acide chlorhydrique.

Ainsi préparée, l'invertine est riche en matières minérales : les cendres qui représentent souvent 20 pour 100 et plus de son poids, sont surtout constituées de phosphates terreux. L'analyse élémentaire a donné les résultats suivants :

C	44,20	44,60
H	8,50	8,30
As.	6,40	5,50 ¹
S	0,63	

Barth en conclut que l'invertine n'est pas une substance albuminoïde parce qu'elle est plus pauvre en carbone et en azote que ces substances.

Zulkowski étudie la diastase du malt. Du malt débarrassé des germes est grossièrement égrugé, épuisé par l'alcool à 96 pour 100 et mélangé avec de la glycérine concentrée. La pâte ainsi constituée est abandonnée à elle-même huit jours, puis pressée dans de la mousseline de laine.

La glycérine qui s'écoule diluée de un à deux volumes d'eau est jetée sur un filtre et la liqueur filtrée est versée dans un mélange d'alcool et d'éther absolus. Un précipité blanc se forme : après l'avoir bien lavé à l'alcool on le dessèche dans le vide. Ce précipité, partiellement soluble dans l'eau, fournit une solution opalescente, visqueuse et mousseuse, douée du pouvoir amylolytique.

La solution précipite par l'acide acétique et le sulfate de magnésie, ou par l'acide acétique et le chlorure de sodium ; elle donne une légère réaction du biuret. Mais après plusieurs précipitations par l'alcool et redissolutions par l'eau, la substance ne montre plus les réactions des substances albuminoïdes. L'analyse fournit les résultats suivants :

C.	47,57
H	6,49
Az.	5,14
O et S.	37,64
Cendres	3,16

Wurtz a fait une étude très intéressante d'un ferment protéolytique végétal la papaïne.

Le suc qui s'écoule d'incisions faites sur la tige du *carica papaya* possède la propriété de dissoudre, en les peptonisant, les substances albuminoïdes. Il doit cette propriété à la présence d'un ferment soluble la papaïne.

Lorsque le suc est abandonné à lui-même, il se coagule et se divise en une pulpe et une liqueur claire, à réaction neutre. La pulpe épuisée par l'eau cède de la papaïne à

cette eau. La solution de papaïne débarrassée d'une partie des matières salines par dialyse donne par l'alcool un précipité qui, lavé à l'alcool, à l'éther, desséché dans le vide à 75° a la composition suivante :

C.	50,70 à	52,77
H	6,71 à	7,47
Az.	15,17	— — — —
S	2,20 à	2,60

Pour obtenir une substance plus pure, on précipite par l'acétate basique de plomb la solution de papaïne ; on retient sur le filtre le précipité et on le soumet à l'action de l'hydrogène sulfuré. La solution est concentrée dans le vide et additionnée d'alcool en quantité suffisante pour précipiter bien complètement le sulfure de plomb. La liqueur légèrement alcoolique ainsi obtenue, séparée par filtration du précipité, est traitée par un excès d'alcool et le précipité produit, considéré comme papaïne pure, est analysé.

C	52,36	52,19	52,90
H	7,37	7,12	— — —
Az.	16,94	16,40	16,44
Cendres.	2,60	4,22	3,40

La papaïne présente la composition des substances albuminoïdes.

Précipitée par l'acétate basique de plomb, la papaïne est soluble dans son poids d'eau ; la solution ne se trouble que peu par l'ébullition ; les acides chlorhydrique et nitri-

que donnent un précipité soluble dans un excès d'acide ; le chlorure de mercure trouble la liqueur à froid et la précipite à l'ébullition ; le chlorure de platine, le tannin, l'acide picrique, donnent d'abondants précipités ; le réactif de Millon donne un précipité blanc devenant rouge brique par l'ébullition.

Brown et Héron constatent que si l'on chauffe un extrait de malt, on voit se produire vers 46° une première coagulation. En élevant la température progressivement au-dessus de 46°, on voit se former un nouveau coagulum qui augmente jusqu'à 95° en même temps que disparaît le pouvoir diastasique de la liqueur. Ce pouvoir diastasique est produit vers 80-81°, température qui suffit d'ailleurs pour coaguler la plus grande partie de la matière coagulable. D'autre part, si l'on filtre sur porcelaine dégourdie, un extrait de malt, on obtient une liqueur qui n'est plus coagulable par la chaleur et qui a perdu toute propriété diastasique. *Brown et Héron* tirent de ces faits la conclusion que le pouvoir diastasique de ces extraits dépend de la présence des substances albuminoïdes coagulables qu'ils tiennent en solution.

Læw fait remarquer que les ferments préparés par *Barth*, *Zulkowsky*, etc., sont mélangés d'une forte proportion de substances étrangères, ce qui permet de comprendre pourquoi des ferments qui présentent les réactions albuminoïdes renferment moins d'azote que ces substances. L'invertine préparée par *Barth* est mélangée de gomme, comme l'a démontré *Kiliani* ; en effet, bouillie avec de l'acide sulfurique à 5 pour 100, elle donne une forte proportion de glucose. La présence de cette gomme mas-

que d'ailleurs la réaction du biuret, car la gomme donne avec les solutions alcalines de sels de cuivre un précipité bleu. La diastase de Zulkowsky contient de fortes proportions de dextrine, ainsi qu'il ressort du mode de préparation même : bouillie avec de l'acide sulfurique, cette diastase donne du sucre. Au lieu de procéder comme Zulkowsky, il est préférable de mettre le malt en contact avec de l'alcool à 40 pour 100 pendant deux jours, de filtrer et de précipiter par un mélange de deux volumes d'alcool et d'un volume d'éther. Ce précipité est lavé à l'alcool absolu, desséché sur l'acide sulfurique, traité par l'eau, filtré, précipité par l'acétate de plomb. La liqueur est débarrassée de l'excès de sel de plomb par l'hydrogène sulfuré, et la liqueur, après séparation du sulfure de plomb, est précipitée par l'alcool et l'éther. Le précipité est lavé à l'alcool et à l'éther absolus, et desséché sur l'acide sulfurique. Ainsi préparée, la substance diastasique présente les propriétés d'une protéose ; réaction de Millon, réaction du biuret, précipitation par le tannin, par l'acide picrique, par le ferrocyanure de potassium acétique, non coagulation par la chaleur. Ce résultat concorde avec ceux obtenus par Brown et Héron pour la même diastase et par Seegen et Kratschmer pour le ferment diastasique du foie.

Lœw étudie plus particulièrement le ferment pancréatique : 1000 grammes de pancréas, finement haché, sont abandonnés à la température ordinaire, 14° pendant deux jours, additionnés de 1500 grammes d'alcool à 40 pour 100 pendant deux jours : la liqueur est précipitée par addition de deux volumes d'alcool et un volume d'éther.

Le précipité est lavé à l'alcool absolu, pressé entre deux feuilles de papier, redissous dans l'eau, reprécipité par l'alcool-éther et desséché sur l'acide sulfurique. On redissoud encore ce résidu dans l'eau ; on précipite la liqueur par l'acétate de plomb ; on se débarrasse du plomb par l'hydrogène sulfuré, on précipite le ferment par l'alcool et l'éther, et on le dessèche. On obtient ainsi une quantité de ferment égale à 2 pour 1000 du poids de la glande. Ce ferment est une poudre blanche facilement soluble dans l'eau, donnant une liqueur légèrement acide, mousseuse, douée d'un énergique pouvoir digestif : 2 grammes dissous dans 100 centimètres cubes dissolvent 150 grammes de fibrine humide en 30 minutes. Ce ferment donne les réactions des protéoses : réaction de Millon, réaction du biuret ; précipitation par les acides phosphomolybdique et phosphotungstique, par le tannin, par le ferrocyanure de potassium acétique, non coagulation par la chaleur. L'analyse centésimale a donné les résultats suivants, rapportés à la substance débarrassée de matières minérales (celles-ci représentaient 1,77 pour 100) :

C.	52,75
H	7,51
Az.	16,55
et S.	23,19

nombres qui correspondent à la composition des substances albuminoïdes.

Kühne avait dit que la trypsine se décompose à la température d'ébullition en 20 pour 100 de substance albu-

minoïde coagulable et 80 pour 100 de peptone. Low pense qu'il ne s'agit pas d'une décomposition, mais d'une séparation : la substance coagulable devrait être considérée comme une impureté.

Landwehr, dans ses études sur la gomme animale, fait remarquer que tous les tissus de l'organisme qui possèdent un pouvoir diastasique amylolytique renferment de la gomme animale, et inversement, que tous les tissus qui contiennent de la gomme animale sont doués du pouvoir diastasique amylolytique. Tout ce qu'on a cru être de la diastase pure, n'est au moins pour la majeure partie que de la gomme animale.

Sundberg étudie la pepsine. Il la prépare de la façon suivante. La muqueuse du grand cul-de-sac de l'estomac du veau, intimement mélangée et broyée avec du chlorure de sodium (de façon que la solution soit saturée de chlorure de sodium). Après trois jours, on jette sur le filtre et on débarrasse la liqueur du chlorure de sodium qu'elle contient par dialyse. Pendant la dialyse, il se dépose une petite quantité d'une substance albuminoïde. La solution ainsi dialysée, ne contient que peu de substances albuminoïdes. C'est à peine si elle précipite par l'acide nitrique, tout en conservant un pouvoir protéolytique énergique. Pour débarrasser la liqueur, ainsi préparée, du labferment qu'elle contient, on la maintient pendant longtemps à 40° : en même temps que le lab est détruit, la substance albuminoïde en solution est transformée en peptone, et après un temps plus ou moins long, la liqueur ne précipite plus par le ferrocyanure de potassium acétique, et ne donne qu'un louche infime par l'acide ni-

trique. Pour achever la purification de cette solution peptique, on l'additionne de chlorure de calcium et de phosphate disodique, puis on neutralise par de l'ammoniaque étendue : une partie de la pepsine est entraînée par le phosphate de chaux. Ce précipité est alors jeté sur un filtre, lavé et redissous dans aussi peu que possible d'acide chlorhydrique à 5 o/o. Cette liqueur est soumise à la dialyse jusqu'à disparition aussi complète que possible des sels dissous. On obtient ainsi une liqueur douée d'un pouvoir peptique très énergique.

Cette liqueur ne donne pas les réactions des substances albuminoïdes : elle ne précipite ni par le tannin, ni par le sublimé, ni par le chlorure de platine, ni par l'acétate de plomb. Le seul réactif, qui précipite la pepsine ainsi préparée, est l'alcool : par addition de 5 à 6 volumes d'alcool, la solution est rendue opalescente d'abord, et peu à peu il s'y dépose un précipité blanc qui renferme la pepsine. Mais, ajoute Sundberg, on ne peut pas obtenir assez de ce précipité pour le soumettre à l'analyse élémentaire. On peut dire seulement que cette substance renferme une assez forte proportion de cendres et est azotée.

De ces recherches, il ressort que la pepsine n'est vraisemblablement pas une substance albuminoïde : en effet, les solutions de Sundberg ne précipitent pas par le tannin, réactif qui précipite des solutions contenant seulement 1/100.000 de substances albuminoïdes (Hofmeister), tandis qu'elles précipitent par l'alcool, réactif beaucoup moins sensible, vis-à-vis des mêmes substances albuminoïdes, que le tannin.

Lintner prépare la diastase de la façon suivante : une partie de malt est mise à macérer pendant 24 heures avec 2 à 4 parties d'alcool à 20 o/o. La liqueur ainsi obtenue filtrée, est précipitée par 2 vol. 1/2 d'alcool absolu. Le précipité est lavé à l'alcool absolu, à l'éther, et desséché dans le vide sur l'acide sulfurique. Pour purifier le ferment ainsi obtenu, il faut le redissoudre dans l'eau et le reprécipiter par l'alcool plusieurs fois. On élimine ainsi les dextrines ou substances voisines qui souillent les premiers précipités : les dernières liqueurs ne réduisent plus la liqueur de Fehling, soit directement, soit après avoir été bouillies avec l'acide chlorhydrique. Ainsi purifié, le ferment contient encore 10 o/o de matières minérales : par une dialyse prolongée, on lui enlève la moitié de ces matières minérales, mais il en reste encore environ 5 o/o. L'analyse élémentaire, rapportée à la substance sans cendres, a donné les résultats suivants :

C.	46,66
H.	7,35
Az	10,41
S.	1,12
Cendres.	4,79

La diastase est donc un corps azoté, mais qui ne se confond pas avec les substances albuminoïdes proprement dites : c'est ce qu'avaient trouvé Hübner pour les ferments du pancréas, Barth et Donath pour l'invertine ; cependant cette substance est voisine des substances albuminoïdes.

Les solutions de diastase ne réduisent pas la liqueur de Fehling, même après ébullition avec l'acide chlorhydri-

que, ne précipitent pas à l'ébullition, précipitent par l'acide chlorhydrique, par l'acide acétique, par le sublimé par l'acétate de plomb, par le ferrocyanure acétique ; elles fournissent la réaction xanthoprotéique et la réaction de Millon. La diastase est peut-être un produit d'oxydation de certaines matières protéiques.

Hirschfeld prépare la diastase de la façon suivante : le malt est mis à macérer dans la glycérine pendant environ trois semaines à la température ordinaire, puis la masse pâteuse est additionnée d'eau et exprimée. La liqueur brunâtre ainsi obtenue est additionnée de la moitié de son volume d'alcool absolu et filtrée de nouveau : le ferment qui est soluble dans l'alcool dilué passe dans la liqueur. Celle-ci est précipitée par trois volumes d'alcool, additionné d'éther. Le précipité est redissous dans l'eau et pour purifier le ferment, on reprécipite par l'alcool, etc., plusieurs fois.

La substance ainsi préparée est partiellement soluble dans l'eau : la liqueur aqueuse ne précipite pas par l'acétate neutre de plomb, mais précipite par l'acétate basique. Elle ne donne pas la réaction du biuret. A l'ébullition, il se produit un léger trouble, mais ce trouble n'est pas dû à un coagulum albumineux, car il disparaît par addition de quelques gouttes d'acide nitrique. La solution de diastase traitée par le sel de cuivre et la potasse donne un précipité floconneux bleu, qui, à l'ébullition, ne se modifie pas : c'est là une réaction de la gomme.

L'auteur prépare encore la diastase par une autre méthode : 1.000 grammes de malt sont agités avec 2.000 centimètres cubes d'une solution d'acétate basique de

plomb à 1/2 o/o. Après un contact de plusieurs heures, on jette sur un filtre : la liqueur est maintenue à 50° pour transformer l'amidon en maltose, puis l'enzyme est précipitée par l'alcool, redissoute dans l'eau et reprise par l'alcool. La solution aqueuse du précipité alcoolique possède le pouvoir saccharifiant; elle ne contient pas de substance réductrice, ne donne pas la coloration de Millon, se comporte vis-à-vis de l'acétate basique de plomb et de l'acide sulfhydrique comme une solution de gomme, le sulfure de plomb reste en suspension dans la liqueur et traverse le filtre.

En résumé, d'après Hirschfeld, le ferment et la gomme se comportent exactement de la même manière vis-à-vis des différents réactifs chimiques : le ferment ne diffère de la gomme que par son pouvoir amylolytique. Ce qu'on appelle diastase est un corps qui possède toutes les réactions de la gomme et en plus la propriété de saccharifier l'amidon. Mais s'il y a une gomme sans propriété diastasique, il n'y a pas de propriété diastasique sans gomme.

Pekelharing considère le fibrin ferment comme une combinaison organo-métallique capable de transférer le calcium du plasma dans la fibrine. La matière organique entrant dans la constitution de cette combinaison serait d'après *Pekelharing* une nucléoalbumine. *Pekelharing* précipite le fibrinogène du plasma oxalaté à 1 pour 1000 par le chlorure de sodium dissous à saturation, débarrasse par dialyse ce plasma chloruré de la majeure partie du chlorure de sodium qu'il contient, sans prolonger la dialyse jusqu'à l'apparition d'un précipité de globuline et additionne ce liquide d'acide acétique étendu jusqu'à

réaction nettement acide. Il se produit un précipité (soluble dans un excès d'acide acétique); ce précipité peut être séparé par le centrifuge. Lavé à l'eau, il se montre constitué par une substance soluble dans les solutions salines étendues, soluble dans les alcalis étendus, comme la paraglobuline, mais différant de cette dernière substance par son insolubilité dans l'acide acétique étendu, et par sa propriété de transformer le fibrinogène en fibrine dans les liqueurs calciques. Cette substance est soluble dans l'acide chlorhydrique à 1 pour 1000. Une telle solution traitée par la pepsine à la température du corps ne tarde pas à devenir opalescente et à déposer en quelques heures un précipité. Le liquide séparé de ce précipité donne la réaction du biuret; le précipité insoluble dans l'acide chlorhydrique, et dans l'acide acétique, facilement soluble dans les alcalis donne par l'incinération avec du carbonate de soude et du salpêtre un résidu salin contenant des phosphates. La substance ainsi séparée du plasma sanguin est donc une nucléoalbumine.

Cette nucléoalbumine est considérée par Pekelharing comme une substance zymogène, donnant en se combinant avec les sels calciques le fibrinferment, composé nucléoalbuminoïdo-calcique.

Henninger, s'appuyant sur les analyses centésimales, dit :

« Les diastases ont la composition des albuminoïdes ou des peptones, et c'est en effet de ces dernières que les diastases se rapprochent par leurs propriétés, s'il est permis d'étendre à toute la classe les importantes observations de Wurtz sur les propriétés de la papaïne. Tou-

tes ces réactions sont celles des peptones ou plutôt des propeptones dont la papaïne et la pancréatine se différencient uniquement par leur pouvoir ferment ; si l'on détruit celui-ci par la chaleur, rien ne permet actuellement de les distinguer de ces corps ».

« En comparant, dit *Duclaux*, les résultats de toutes ces analyses avec ceux qu'on obtient quand on étudie les matières albuminoïdes on trouve que ces diastases renferment beaucoup moins de carbone et beaucoup plus d'oxygène que les matériaux constitutifs des organismes vivants : on a donc le droit de les considérer comme des matières albuminoïdes oxydées, ce qui explique à la fois qu'elles ne jouissent plus des propriétés des matières albuminoïdes, et qu'elles renferment pourtant encore de l'azote.

« Toutefois, à côté de ces conclusions, il faut mettre les conclusions un peu différentes auxquelles a été conduit Wurtz, en étudiant la composition de sa papaïne, préparée par le sous-acétate de plomb, pour laquelle il a trouvé, les chiffres suivants, déduction faite des cendres.

C.	52,36	52,19	52,90
H.	7,37	7,12	———
Az.	16,94	16,40	16,44
Cendres. . .	2,60	4,22	3,40

C'est une composition très voisine de celle des matières albuminoïdes. Nous avons vu pourtant que la papaïne s'en distingue par ses réactions. Peut-être, d'ailleurs, dans ce qui a été analysé comme papaïne, la matière active

n'entraîtrait-elle qu'en faible proportion, perdue dans une masse de matières qui, provenant toujours de la même origine, et traitées toujours à peu près de la même façon, pouvait avoir toujours la même composition ».

Cette revue sommaire des principaux travaux relatifs à la constitution chimique des enzymes ne permet de tirer aucune conclusion ferme. Pour les uns, les enzymes sont des substances albuminoïdes ou des substances voisines des substances albuminoïdes, dont elles présentent sinon la composition centésimale, du moins les propriétés. Pour les autres, les enzymes sont des substances essentiellement distinctes des substances albuminoïdes, dont elles ne possèdent pas toutes les propriétés, dont elles se distinguent même par un grand nombre de réactions. Pour d'autres, les enzymes sont des hydrates de carbone, gomme ou substances voisines de la gomme, etc.

III

TRAVAUX SUR LE MODE D'ACTION DES ENZYMES.

On a admis pendant longtemps avec *Berzélius* que les enzymes agissent à la façon de la mousse de platine sur l'eau oxygénée : on a rangé les phénomènes diastasiques dans le groupe des phénomènes catalytiques, phénomènes dont le mécanisme était absolument obscur.

On sait que si l'on plonge dans l'eau oxygénée certains corps pulvérulents tels que l'or, le palladium, l'argent, chimiquement précipités, la mousse de platine, le charbon pulvérulent, le bioxyde de manganèse, le sesquioxyde de fer, etc., l'eau oxygénée est décomposée et des bulles gazeuses se dégagent. On pensait que les ferments agissent de même par une force inconnue qu'on appelle catalytique.

Certaines expériences anciennes de *Schœnbein* semblent démontrer que les solutions diastasiques possèdent la propriété, comme la mousse de platine, de décomposer l'eau oxygénée. *Schœnbein* croyait même que cette propriété était intimement liée à la propriété ferment. Tous

les agents capables de faire perdre aux solutions leur propriété diastasique leur font en même temps perdre leur propriété de décomposer l'eau oxygénée, et inversement tous les agents capables de leur enlever leur propriété de décomposer l'eau oxygénée leur font perdre leur propriété ferment. Jacobson a repris ces expériences et montré très nettement que la conclusion de Schœnbein n'est pas exacte : il est, en effet, possible de faire perdre aux solutions d'enzymes l'une seulement de leurs deux propriétés, soit la propriété diastasique, soit la propriété de détruire l'eau oxygénée.

Liebig considère les enzymes comme des substances capables de fixer l'eau sur certains corps : la transformation de la saccharose en glucose et lévulose par le ferment inversif, s'accompagne d'une hydratation ; la saccharification de l'amidon par le ferment amylolytique de la salive ou du suc pancréatique s'accompagne d'une hydratation, la peptonisation des substances albuminoïdes par le suc gastrique et le suc pancréatique s'accompagne d'une hydratation, si l'on admet l'opinion émise par la plupart des auteurs, qui considèrent les peptones comme des produits d'hydratation des substances albuminoïdes. Cette hydratation ne se fait pas spontanément, mais elle peut être provoquée par l'action de certaines substances telles que les acides, telles aussi que des enzymes convenablement choisies. *Liebig* admet que l'enzyme prend l'eau, comme une éponge sèche plongée dans une liqueur, absorbe cette liqueur, pour la rendre quand on l'exprime.

Pekelharing admet que le fibrin ferment se comporte

d'une semblable façon. Cette enzyme se combinerait aux sels calciques dissous dans le plasma sanguin pour céder ces sels au fibrinogène ou à l'un des produits de sa décomposition.

D'après *Bunsen*, d'après *Hüfner* la molécule d'enzyme entrerait en combinaison avec les substances à transformer, comme l'acide sulfurique entre en combinaison avec l'alcool dans la production de l'éther ordinaire. On sait que le premier stade de transformation de l'alcool, dans la production de l'éther, est une combinaison de l'acide sulfurique avec l'alcool, l'acide sulfovinique. Dans un second stade, l'acide sulfovinique réagissant sur l'alcool, il se forme de l'oxyde d'éthyle, et l'acide sulfurique se régénère.

Il en serait de même pour les enzymes, qui contracteraient avec les substances fermentescibles des combinaisons pouvant être ultérieurement décomposées par les corps en présence avec régénération de la molécule d'enzyme.

Fibrine + trypsine = fibrinetrypsine +.....

Fibrinetrypsine + fibrine = protéoses + trypsine
ou autres équations chimiques analogues.

D'après *Naegeli*, les phénomènes de fermentation ne devraient pas être considérés comme des phénomènes purement chimiques ; ils appartiendraient au moins partiellement à la physique. Cet auteur admet en effet que les molécules d'enzymes sont animées de vibrations particulières, capables de déterminer dans les substances fermentescibles des vibrations moléculaires pouvant détruire la molécule.

Cette conclusion de Naegeli a été reprise sous une forme un peu modifiée par *de Jager*.

Après avoir fait remarquer que l'analyse chimique centésimale a été impuissante à nous renseigner sur la nature des enzymes, parce que les résultats obtenus ne sont pas concordants, et que les matières analysées sont, au moins en majeure partie, composées d'impuretés; — après avoir rappelé que l'on a toujours considéré à l'origine les forces de la nature, lumière, électricité, magnétisme, comme des substances, pour en faire plus tard des propriétés de substances, des forces, lorsqu'on a pu constater que les substances lumineuse, magnétique, etc., si elles existaient, devraient être impondérables, — *de Jager* conclut que les enzymes doivent être considérées comme des forces et non comme des substances; que les fermentations doivent être considérées comme des transformations chimiques produites par des agents physiques ou mécaniques, et ne résultant nullement de quelque combinaison chimique à laquelle participerait une molécule chimiquement définie d'une substance-enzyme.

Pour appuyer ces conclusions sur des faits expérimentaux, *de Jager* cite les expériences anciennes de von Wittich et les expériences plus récentes de Fick.

Von Wittich, dans ses études sur la pepsine, avait constaté que la pepsine ne dialyse pas, au moins en quantité appréciable, lorsque le dialyseur contenant la liqueur peptique plonge dans l'eau; mais si dans cette eau extérieure sont plongés des flocons de fibrine, ceux-ci attirent et fixent la pepsine, car, plongés dans une liqueur légèrement acide, ils se dissolvent. *De Jager*, interprétant ces

expériences, dit que l'eau a transmis les vibrations diastiques à la fibrine qui a pu vibrer sous leur influence : cette fibrine vibrante possède la propriété de se dissoudre en se peptonisant.

Fick verse au fond d'un verre une liqueur glycérique de macération de caillette de veau, et au-dessus, avec les plus grandes précautions, pour ne pas mélanger les deux liquides, du lait à 40°. Le vase est plongé dans un bain marie à 40°. La caséification se fait en moins d'une minute, dans toute l'étendue de la couche de lait. Or, il est impossible, d'après Fick, d'admettre que le labferment ait pu diffuser jusque dans les couches supérieures, parce que, d'après les recherches de Stefan (Fick semble admettre que le labferment est une substance albuminoïde), si l'on met dans une éprouvette une solution d'albumine de 10 centimètres d'épaisseur et une couche d'eau de 1 mètre d'épaisseur par-dessus, l'albumine n'apparaîtrait dans les couches supérieures qu'après 14 ans. Fick en tire cette conclusion qu'il n'est pas nécessaire que chaque molécule de caséine se combine avec une molécule de ferment pour se transformer.

Je ne sais pas, dit de Jager, si le lait lui-même coagulé dans l'expérience de Fick possède la propriété de coaguler un autre lait. Sinon, cela prouverait bien l'absence de ferment ; si oui, cela prouverait simplement que le lait lui-même peut acquérir la propriété enzyme,

Il ne semble plus possible de soutenir l'existence d'une force catalytique. L'expression même de force catalytique indique l'ignorance des causes des phénomènes que produirait cette cause. Mieux vaudrait avouer franche-

ment qu'on ignore absolument la cause d'un phénomène que de l'attribuer à une force catalytique. On prenait comme exemple de ces phénomènes la décomposition de l'eau oxygénée par la mousse de platine. On sait que cette décomposition est un phénomène de dissociation : la mousse de platine introduit dans l'eau oxygénée une infinité de bulles d'air, qui constituent une atmosphère gazeuse au sein du liquide : plonger de la mousse de platine dans une liqueur, c'est étaler ce liquide en couche mince au contact de l'air. Or, l'eau oxygénée est dissociable : sa dissociation est naturellement d'autant plus rapide que la surface de contact avec l'air est plus étendue.

La mousse de platine favorise pour cette raison de dissociation de l'eau oxygénée : mais le sucre de canne est-il dissocié ? L'amidon est-il dissocié ? Les substances albuminoïdes sont-elles dissociées ? Assurément non. Il n'est donc pas possible de rapprocher des phénomènes aussi différents que la saccharification de l'amidon, l'inversion de la saccharose, la peptonisation des substances albuminoïdes d'une part, et la décomposition de l'eau oxygénée par la mousse de platine d'autre part.

Les théories de Liebig, de Bunsen et d'Hüfner, ne sont que des hypothèses dont rien n'est venu prouver la valeur. Dire que les ferments se comportent dans les phénomènes de fermentation comme l'acide sulfurique dans la préparation de l'éther, c'est faire une comparaison, mais rien de plus. On dit : tout se passe comme si le ferment existait chimiquement, comme si ce corps se combinait avec la substance transformable, et comme si cette

molécule dans laquelle entre le ferment se décomposait en régénérant le ferment et fournissant une substance de formation nouvelle. C'est une comparaison, je le répète, ce n'est pas une démonstration du mode d'action et de la nature des enzymes.

La théorie de Jager est également une hypothèse, et les faits qu'il a fournis à l'appui de cette théorie sont insuffisants pour la soutenir. Les expériences de von Wittich sur la possibilité de faire dialyser la pepsine dans une eau qui contient des flocons de fibrine ne paraissent devoir être acceptées qu'avec les plus extrêmes réserves : von Wittich, à l'époque où étaient faites ses recherches, ne pouvait pas opérer dans des conditions d'asepsie parfaites ; il pouvait prendre par conséquent pour des transformations peptiques de simples phénomènes de putréfaction.

Les expériences de Fick ont été reprises et attaquées par Latschenberger. Cet auteur a constaté que si l'on emploie un appareil permettant de superposer une solution glycérinée de labferment et du lait, en évitant tout mélange des deux liqueurs, les couches inférieures du lait seules, celles qui sont en contact avec la liqueur glycécinée, sont caséifiées, les couches supérieures restant liquides pendant très longtemps : résultat qui démontre nettement que, dans les expériences de Fick, toutes les précautions nécessaires pour empêcher le mélange des deux liqueurs, n'ont pas été prises. Latschenberger a réalisé les mêmes expériences et obtenu des résultats identiques en superposant une liqueur fibrinogénique et une liqueur contenant du fibrin ferment.

Les faits sur lesquels s'appuyait de Jager, n'étant pas certainement exacts ne sauraient servir d'appui à sa théorie.

En résumé, deux théories sont en présence pour expliquer l'action des enzymes : l'une qui considère les enzymes comme des corps capables de contracter des combinaisons passagères avec les substances fermentescibles et d'être régénérées par destruction de ces combinaisons ; l'autre, moins, beaucoup moins répandue, indiquée plutôt que nettement énoncée, appuyée par de Jager, sur des faits inexacts, qui considère les enzymes comme des vibrations moléculaires capables de produire des décompositions chimiques.

IV

NOUVELLE THÉORIE DE LA NATURE DES ENZYMES.

Malgré l'abondance des travaux sur les enzymes, la question se pose toujours la même. Que sont les enzymes ? Sont-elles des corps définis ? Sont-elles des propriétés passagères de certains corps définis, résultant du contact de ces corps avec la matière organisée vivantes ? Sont-elles des propriétés de corps appartenant à des séries chimiques bien différentes, tels que substances albuminoïdes, hydrates de carbone, etc. ? Sont-elles des vibrations et par conséquent des forces mécaniques ? des forces de dégagement ?

Je n'ai pas la prétention de résoudre ces questions. Je veux simplement présenter quelques remarques qui pourront sans doute être utilisées pour l'établissement d'une théorie définitive.

L'analyse chimique centésimale ou la simple analyse qualitative sont insuffisantes pour caractériser les enzymes.

On a cherché à les rattacher aux principaux groupes de

substances organiques qu'on rencontre dans les corps organisés : les uns en ont fait des substances albuminoïdes ; les autres en ont fait des gommes ; d'autres en font des substances non définies qui ne sont pas des substances albuminoïdes. Et tous citent à l'appui de leur dire des analyses qualitatives et quantitatives.

Mais dans tous ces travaux un fait frappe : tous les auteurs, après avoir soumis la liqueur diastasique et les produits qui en dérivent à une série de manipulations longues et laborieuses, disent qu'ils ont préparé l'enzyme pure. Mais aucun ne dit à quel caractère il reconnaît que l'enzyme est pure : tous admettent qu'après une série de dissolutions et de précipitations l'enzyme doit être pure. D'autre part, suivant les liqueurs d'origine, suivant les modes de préparation, les ferments supposés purs présentent telles ou telles propriétés, telle ou telle composition. C'est dire que la composition et les propriétés des enzymes des auteurs dépendent plus des conditions de leur préparation que de leur nature même. C'est dire, par conséquent, que ce qu'on analyse ce sont bien plutôt des substances albuminoïdes, des hydrates de carbone, des sels (car les enzymes des auteurs fournissent toujours de fortes proportions de cendres), que la substance active, en supposant qu'il existe une substance active de par sa composition chimique.

Comme le fait remarquer Henninger, la diastase du malt retient une forte proportion de dextrine à en juger d'après son mode de préparation, et de fait elle donne de la glucose lorsqu'on la fait bouillir avec de l'acide sulfurique faible. Le ferment inversif du foie contient à l'état

de mélange plus de 50 pour 100 de glycogène d'après Seegen et Kratschmer. L'invertine de la levure préparée et analysée par Barth est souillée d'une forte proportion de gomme : Kiliani, en la soumettant à l'ébullition avec de l'acide sulfurique à 5 pour 100 a obtenu de notables proportions de glucose. Aussi, ajoute Henninger, toutes les analyses de la diastase proprement dite, de l'émulsine, du ferment inversif du foie, etc., que l'on a publiées accusent-elles certainement une teneur en azote trop faible.

Par conséquent les enzymes, en supposant que ce soient des substances actives de par leur composition chimique, ne pourraient être rangées actuellement dans aucun groupe chimique, car ce qu'on a analysé est surtout composé d'impuretés.

Est-on mieux renseigné sur le mode d'action de ces substances ?

Un fait fondamental est que l'enzyme subsiste dans les liqueurs où elle a exercé son activité, comme l'acide sulfurique subsiste dans les liqueurs de préparation de l'éther. Mais est-ce à dire que les deux phénomènes sont calqués l'un sur l'autre ? En aucune façon : en voici la preuve.

Pour préparer l'éther ordinaire, on fait réagir l'acide sulfurique concentré sur l'alcool. On mélange sept parties d'alcool ordinaire avec dix parties d'acide sulfurique concentré et on chauffe à 140°. L'acide sulfurique peut éthérifier des quantités très considérables d'alcool. Cependant il finit par s'altérer et noircir. En pratique il éthérifie 25 à 30 fois son poids d'alcool.

Pour préparer le glucose au moyen de la fécule et de

l'acide sulfurique (l'acide sulfurique ne disparaît pas dans cette préparation), on mélange deux parties de fécule avec 150 fois son poids d'eau; on porte à l'ébullition et on incorpore peu à peu cinquante parties de fécule délayée dans cinquante parties d'eau tiède.

En est-il de même pour les enzymes? Nullement. Écoutez M. Duclaux.

« Nous ne voulons pour le moment, dit-il, qu'attirer l'attention sur la disproportion vraiment prodigieuse entre l'effet produit et le poids de l'élément actif. Une présure concentrée préparée par Soxhlet et qui coagulait 50.000 fois son poids de lait à 35° en 40 minutes ne contient pas plus de 3,1 pour 100 de matières organiques en solution. Celle-ci agissait donc sur 600.000 fois son poids de lait; elle n'était certainement pas formée de diastase pure, et n'en contenait peut-être pas la moitié de son poids. Il faudrait donc évaluer à plus du double l'activité spécifique de la diastase pure et quintupler au moins le chiffre obtenu pour arriver au volume de lait qu'aurait pu coaguler un volume de cette présure, si on lui avait donné le temps nécessaire. On dépasse ainsi le chiffre de 5.000.000. En basant ces calculs non plus sur le poids du lait mais sur celui de la caséine, on trouve que la diastase présure peut coaguler 250.000 fois son poids de caséine. »

En résumé, les enzymes ne peuvent être considérées comme des agents jouant un rôle analogue à celui de l'acide sulfurique dans l'éthérification de l'alcool ou dans la saccharification de l'amidon, puisqu'elles agissent à dose infiniment petite sur les substances fermentescibles.

La conception de Bunsen et d'Hüfner devient donc pu-

rement hypothétique. Les enzymes seraient des substances impossibles à définir cliniquement, parce qu'en supposant même leur existence matérielle démontrée, elles ne pourraient être obtenues qu'en quantité infiniment petite et mélangées à des impuretés si abondantes que l'enzyme se trouverait perdue dans la masse. Les enzymes seraient des substances agissant d'une façon absolument particulière, et les phénomènes diastasiques ne sauraient être rapprochés d'aucun autre groupe de phénomènes chimiques.

Les enzymes sont toujours mélangées à des impuretés abondantes. Ne peut-on faire un pas de plus? Ne peut-on admettre que ce qu'on a considéré comme des enzymes n'est formé que d'impuretés et que l'enzyme n'a aucune existence matérielle? Ne peut-on revenir à l'hypothèse de Jager? Sans doute, ce ne saurait être qu'une hypothèse, de même d'ailleurs que la conception de Bunsen et d'Hüfner actuellement admise de la grande majorité des physiologistes n'est qu'une hypothèse. Mais cette hypothèse permettrait de ne pas faire des phénomènes de fermentation des phénomènes absolument anormaux, n'ayant aucune relation avec les phénomènes aujourd'hui observés ou connus.

Pour rendre cette hypothèse admissible, je ne dis pas démontrée exacte, mais admissible, vraisemblable, je me propose de faire un rapide parallèle entre les phénomènes de fermentation et les phénomènes physiques : lumineux, calorifiques, magnétiques, électriques.

Comme le fait remarquer de Jager, tous les phénomènes de la nature ont d'abord été considérés comme des

phénomènes produits par des substances, des fluides matériels. On a parlé tout d'abord du fluide électrique, du fluide magnétique, du fluide lumineux, du fluide calorifique. Mais lorsque les études physiques se sont développées, lorsqu'on a analysé plus minutieusement les grands phénomènes naturels, on a vu que ces différents fluides, pour exister, devraient être impondérables, et, comme cette notion de l'impondérabilité de la matière est contraire à toute notion actuellement acquise, on a dû rejeter l'hypothèse des fluides pour lui substituer l'hypothèse des vibrations. La lumière n'est pas une substance, c'est une propriété de substances ; le magnétisme n'est pas une substance, c'est une propriété de substances, etc.

En substituant la notion de l'*enzyme-propriété* à la notion de l'*enzyme-substance*, on ne fait donc que suivre une marche identique à celle suivie par les physiciens dans l'étude des phénomènes physiques. Sans doute on n'a pas encore démontré que les enzymes sont impondérables ; on a seulement démontré que des quantités d'enzymes certainement moindres que des quantités très petites peuvent produire des transformations très grandes. On connaît une limite supérieure du rapport des poids d'enzyme et de corps transformé et l'on sait que cette limite est très petite : dans le cas de la présure, elle est égale à $1/250.000$.

Peut-être des expériences plus délicates et convenablement ordonnées permettront-elles de diminuer encore cette limite, et ainsi de suite, la valeur du rapport diminuant de plus en plus et tendant vers 0.

Les enzymes produisent des transformations chimi-

ques. — Les forces physiques produisent également des transformations chimiques : la chaleur décompose certains corps ou provoque certaines combinaisons : le carbonate de chaux est décomposé en chaux et gaz carbonique à haute température ; l'acide sulfurique et le cuivre se combinent sous l'influence de la chaleur, etc. La lumière transforme certaines substances ; elle transforme le chlorure d'argent blanc en chlorure d'argent noir, le rendant insoluble dans l'ammoniaque et dans l'hyposulfite de soude ; elle provoque la combinaison du chlore et de l'hydrogène, etc. L'électricité provoque des combinaisons et surtout des décompositions : il suffit de rappeler les innombrables phénomènes d'électrolyse. Que les enzymes, propriétés de substances (comme la lumière, la chaleur, l'électricité sont des propriétés des corps dits lumineux, chauds et électriques) provoquent des transformations chimiques, il n'y a rien là de surprenant et d'anormal.

Les enzymes sont détruites par la chaleur. — Nous avons au moins un exemple d'une force physique détruite par la chaleur : le magnétisme. Un barreau aimanté porté au rouge perd totalement et définitivement son aimantation. Sans doute les enzymes sont détruites à une température inférieure à 100° et l'aimantation n'est détruite qu'à très haute température. Mais qu'importe cette différence ? N'est-on pas habitué à en observer de bien plus grandes dans les phénomènes physiques ? Le mercure fond à — 40° ; le fer fond à plus de 1000° : considère-t-on pour cela les phénomènes de fusion de mercure et du fer comme essentiellement différents ?

Les enzymes sont solubles dans l'eau et dans la glycérine. — Si on plonge dans de l'eau froide, à 0° par exemple, un corps chaud, à 100° par exemple, que ce corps se dissolve ou qu'il ne se dissolve pas, peu importe : la température de l'eau s'élève parce que le corps lui cède de la chaleur. On peut dire, dès lors, que la chaleur s'est dissoute dans l'eau, comme les enzymes se dissolvent dans l'eau. Sans doute, dans l'exemple physique que nous venons de prendre, la chaleur passe du corps chaud dans le liquide froid, quelle que soit la nature de ce liquide ; tandis que les enzymes ne passent pas dans tous les liquides. Mais qu'importe cette différence : tous les liquides ont la propriété de s'échauffer ; tous les liquides n'ont pas la propriété de devenir diastasiques, de même que tous les corps n'ont pas la propriété de devenir magnétiques.

Les enzymes sont précipitées de leurs solutions par l'alcool. Les enzymes sont entraînées de leurs solutions par les précipités qu'on y détermine.

Si on traite par l'alcool une solution de chlorure de sodium, le précipité de chlorure de sodium emmagasine une certaine quantité de la chaleur contenue dans la solution, ou résultant de son changement d'état : un partage se fait entre la liqueur et le précipité, et ce précipité plongé dans une liqueur froide peut lui céder de la chaleur ; de même que les précipités déterminés par l'alcool dans les liqueurs diastasiques emmagasinent une certaine quantité de l'enzyme contenue dans la liqueur, et peuvent céder cette enzyme lorsqu'ils sont plongés dans des liqueurs convenablement choisies.

Si on détermine des précipitations dans des liqueurs

chaudes, une partie de la chaleur de ces liqueurs est emmagasinée par le précipité, et cette quantité de chaleur varie suivant la chaleur spécifique de précipité et suivant sa quantité ; ce précipité peut ensuite céder à des liqueurs froides une partie de cette chaleur. De même que les précipités produits dans les liqueurs diastasiques fixent une certaine quantité d'enzyme, qu'ils peuvent céder ensuite à des liqueurs convenablement choisies.

Les enzymes sont fixées par la fibrine fraîche et peuvent être cédées par celles-ci à des liqueurs convenablement choisies. La fibrine condense sur elle l'enzyme, de telle sorte qu'il est possible d'obtenir en la plongeant dans une liqueur déterminée, une solution diastatique beaucoup plus active que la solution origine.

Lorsqu'on expose à la lumière certaines substances telles que le sulfure de zinc, ces substances absorbent de la lumière. Lorsqu'ensuite on les place dans l'obscurité, ces substances rayonnent la lumière qu'elles ont absorbée, comme la fibrine fixe des enzymes pour les céder ensuite dans des conditions convenables.

Lorsqu'on met en rapport les deux lames d'un condensateur ou les deux pôles d'un accumulateur avec les pôles d'une pile, on charge d'électricité ces appareils, et on peut, au moyen du condensateur chargé et de l'accumulateur chargé, obtenir des effets beaucoup plus énergiques qu'avec la pile qui a servi à les charger. De même que par l'intermédiaire de la fibrine on peut obtenir des liqueurs diastasiques beaucoup plus actives que la liqueur qui a servi à charger d'enzyme cette fibrine.

Les *proenzymes* ont-elles des termes de comparaison

parmi les phénomènes physiques ? Assurément. Les réactions chimiques les plus variées peuvent être accompagnées d'un dégagement de chaleur, de lumière, ou d'une production d'électricité. Ces réactions chimiques ont engendré des forces physiques, des propriétés de substances, propriétés capables elles-mêmes de déterminer certaines actions chimiques. La combinaison du phosphore et de l'oxygène se fait avec dégagement de lumière, et cette lumière peut impressionner la plaque photographique, déterminer la combinaison d'un mélange de chlore et d'hydrogène, etc. De même certaines substances agissant sur des tissus organiques peuvent déterminer la genèse de diastases capables d'accomplir des actions chimiques.

Les phénomènes *d'enzymolyse* produits par l'action de certaines substances sur les solutions diastasiques ont leurs termes de comparaison parmi les phénomènes physiques. Qu'on traite par l'acide chlorhydrique un barreau aimanté, le barreau est dissous, l'aimantation a complètement disparu.

Les phénomènes de *zymodynamogénie* et de *zyminhibition* ne sont pas sans homologues. Imaginons un courant électrique traversant un certain circuit : l'intensité de ce courant et par conséquent son activité chimique dépendent de la pile génératrice et du circuit conducteur. Imaginons que sur ce circuit on interpose une résistance : immédiatement l'intensité du courant est diminuée, les actions chimiques qu'il peut produire diminuent d'intensité et peuvent même être complètement suspendues. C'est là un phénomène d'électrofrénation ou d'électro-inhibition. Inversement supposons qu'une résistance du cir-

cuit soit supprimée, les actions chimiques produites par le courant deviennent plus actives : il y a électrodynamogénie.

Enfin certaines fermentations ne s'accomplissent qu'en présence de certaines substances : la fermentation peptique ne s'accomplit qu'en liqueur acide, la fermentation par le fibrinferment ne s'accomplit qu'en milieu calcique : il faut pour que ces fermentations s'accomplissent, et dès lors il faut, pour que les ferments existent, que les liqueurs renferment des substances convenables : pas d'acide, pas de pepsine ; pas de sels calciques, pas de fibrinferment. N'en est-il pas de même dans le monde des phénomènes physiques ? Le magnétisme n'existe que sur l'acier ou sur le fer.

Ces quelques comparaisons nous permettent d'énoncer les propositions suivantes :

Les enzymes, détruites par la chaleur, solubles dans l'eau, précipitées de leurs solutions par l'alcool, entraînées par les précipités, fixées par la fibrine fraîche peuvent être considérées comme des propriétés de substances et non comme des substances ; dans le monde des phénomènes physiques nous trouvons des propriétés de substances, chaleur, lumière, électricité, magnétisme qui peuvent être détruites par la chaleur, solubles dans l'eau, précipitées par l'alcool, entraînées par les précipités, fixées sur certaines substances.

Les phénomènes de *zymogénèse*, de *zymolyse*, de *zymodynamogénie*, de *zyminhibition* et de *zymofrénation* ont leurs homologues dans le monde physique, puisque nous avons vu des phénomènes de *thermogénèse* de

*magnetolyse, d'électrodynamogénie, d'électro-inhibition
et d'électrofrénation.*

Il n'est donc pas absurde d'admettre que les enzymes sont des propriétés de substances. Sans doute, cette manière de considérer les enzymes n'est pas démontrée, mais la théorie actuellement régnante des enzymes-substances ne l'est pas davantage.

La théorie que nous proposons n'est qu'une hypothèse, mais elle est à coup sûr vraisemblable et aucun fait ne saurait actuellement être présenté contre elle.

CONCLUSIONS

Les analyses chimiques des substances considérées jusqu'à ce jour comme des diastases ont donné des résultats absolument discordants. Ces résultats démontrent qu'on a analysé surtout et peut-être exclusivement des impuretés.

Sous un poids infiniment petit (et encore dans ce poids convient-il de faire une part aux impuretés) les enzymes produisent des transformations chimiques infiniment grandes. Ne peut-on pas, en tenant compte de l'abondance des impuretés, ne peut-on pas admettre que les enzymes, comme les agents physiques, sont impondérables et ne sont que des propriétés de substances.

Le parallèle peut être fait de tous points entre les enzymes et les forces physiques : la solubilité dans l'eau, la précipitabilité par l'alcool, etc. ne prouvent pas la ma-

térialité des enzymes, car on peut trouver pour les forces physiques des phénomènes analogues.

Nous proposons donc de considérer les enzymes non comme des substances matérielles, mais comme des propriétés de substances matérielles.

Vu : le Président de la thèse,

JOFFROY

Vu : le Doyen,

BROUARDEL

Vu et permis d'imprimer

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. HUEFNER. (G.).—Untersuchungen über die ungeformten Fermente (J. f. prakt. Ch. N. P V., p. 372).
2. DONATH. (Ed.). — Ueber den invertirenden Bestandtheil der Hefe (Ber. d. deutsch. chem. Ges VIII, p. 795).
3. W. KUEHNE. — Weitere Mittheilungen über Verdauungs-enzyme und die Verdauung der Albumine (Verh. d. nat. hist. Ver. Heidelberg, 1876, I. 4).
4. SEEGEN et KRATSCHMER. — Zur Kenntniss der saccharificirenden Fermente (Pflüger's Archiv., XIV, p. 593).
5. BARTH. — Zur Kenntniss des Invertins (Ber. d. deutsch. chem. Ges. XI. p. 474).
6. ZULKOWSKY. — Die chemische Zusammensetzung der Diastase und der Rübensgallerte (Wien. Acad. 77-2 Abth., 647).
7. WURTZ (Ad.) et BOUCHUT (E.). — Sur le ferment digestif du carica papaya (C. R. Acad. des Sc., 89, p. 425).
8. WURTZ (Ad.). — Sur la papaïne. Contribution à l'histoire des ferments solubles (C. R. Académ. des Sc., 90, p. 1379).
9. WURTZ (Ad.). — Nouvelle contribution à l'histoire des ferments solubles (C. R. Acad. des Sc., 91, p. 787).
10. BROWN et HERON. — Beiträge zur Geschichte der Stärke und der Verwandlungen derselben (Liebig's Ann. 199, p. 164).

11. HEINRICH KILIANI. — Ueber Inulin (Liebig's Ann. 205, p. 145).
12. LÖEW (O.). — Ueber die chemische Natur der ungeformten Fermente (Pflüger's Arch., 27, p. 203).
13. LANDWEHR. — Thierisches Gummi ein normaler Bestandtheil des menschlichen Harns (Ctrbl. f. d. med. Wiss., 1885, p. 369).
14. CARL SUNDBERG. — Ein Betrag zur Kenntniss des Pepsins (Zeitsch. f. physiol. Ch., IX, p. 319).
15. LÖEW (O.). — Notizen: Ueber die Natur der ungeformten Fermente (Pflüger's Arch., 36, p. 170).
16. LINTNER. — Studien über Diastase (J. f. prakt. Ch. N. F., 34, p. 378).
17. HIRSCHFELD (Eug.). — Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase (Pflüger's Arch., 39, p. 499).
18. LINTNER. — Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase (Pflüger's Arch., 40, p. 311).
19. PEKELHARING. — Untersuchungen über das Fibrin-ferment (Amsterdam, 1892).
20. PEKELHARING. — Ueber die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung des Blutes (Utrecht, 1891).
21. DUCLAUX. — (Chimie biologique, p. 155 et p. 160).
22. HENNINGER. — Fermentations (Dict. de Ch. de Wurtz., 1^{re} suppl., p. 827).
23. JACOBSON (J.). — Untersuchungen über lösliche Fermente (Zeitsch. f. ph. Ch., XVI, p. 340).
24. L. DE JAGER. — Erklärungsversuch über die Wirkungsart der ungeformten Fermente (Virchow's Arch., 121, p. 182).
25. VON WITTICH. — Das Pepsin und seine Wirkung auf Blutfibrin (Pflüger's Archiv., V, p. 435).
26. FICK. — Ueber die Wirkungsart der Gerinnungsfermente (Pflüger's Arch., 45, p. 293).
27. LATSCHENBERGER. (J.). — Ueber die Wirkungsweise der Gerinnungsfermente (Ctrbl. f. Physiologie, IV, p. 3).

